

参考文献

[1] Sriramula S, Haque M, Majid DS, et al. Involvement of tumor necrosis factor- α in angiotensin II mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy[J]. Hypertension, 2008, 51(5):1345-1351.

[2] Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, et al. Independent association between inflammatory markers(C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension[J]. J Hum Hypertens, 2005, 19(2):149-154.

[3] Yashiro M, Kamata T, Segawa H, et al. Comparisons of cystatin C with creatinine for evaluation of renal function in chronic kidney disease[J]. Clin Exp Nephrol, 2009, 13(6):598-604.

[4] Carnevale V, Pastore L, Camaioni M, et al. Estimate of renal function in oldest old inpatients by MDRD study equation, Mayo Clinic equation and creatinine clearance[J]. J Nephrol, 2010, 23(3):306-313.

[5] Beier K, Eppanapally S, Bazick HS, et al. Elevation of blood urea

nitrogen is predictive of long-term mortality in critically ill patients independent of "normal" creatinine[J]. Crit Care Med, 2011, 39(2):305-313.

[6] Valleggi S, Devaraj S, Dasu MR, et al. C-reactive protein adversely alters the protein-protein interaction of the endothelial isoform of nitric oxide synthase[J]. Clin Chem, 2010, 56(8):1345-1348.

[7] Tohru F. Mitochondrial thioredoxin; novel regulator for NADPH oxidase and angiotensin II-induced hypertension[J]. Hypertension, 2009, 54(2):224-225.

[8] 龙波, 魏秀丽. 尿微量清蛋白在原发性高血压肾损伤早期诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(10):928-929.

[9] 陈灵敏, 熊国亮, 舒程玲. 血清尿酸与高血压病患者病变的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11):1106.

[10] Tatsukawa Y, Hsu WL, Yamada M, et al. White blood cell count, especially neutrophil count, as a predictor of hypertension in a Japanese population[J]. Hypertens Res, 2008, 31(7):1391-1397.

(收稿日期:2011-01-05)

• 经验交流 •

148 例肝硬化患者乙型肝炎病毒基因型分析

李彩东^{1,2}, 吴斌², 段正军², 田鹏飞²

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所 730046; 2. 甘肃省兰州市第二人民医院肝病研究所 730046)

摘要:目的 探讨乙型肝炎病毒(HBV)基因型与肝炎后肝硬化的相关性。方法 用 PCR 荧光基因型分型方法对甘肃地区 HBV 感染者中 148 例肝硬化(LC)患者的血清标本进行分型。结果 基因型在 LC 患者中的分布:B 基因型 39.86%(59/148), C 基因型 57.43%(85/148), 两者差异有统计学意义($\chi^2=4.69, P=0.036$); C 基因型患者丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平明显高于 B 基因型患者($t=1.99, P<0.05$); C 基因型患者血清 HBeAg 阳性率明显高于 B 基因型患者($\chi^2=13.33, P=0.000$)。结论 甘肃地区 LC 患者主要有 B、C 两种基因型, 以 C 基因型为优势基因型, C 基因型与肝病的严重性有关。

关键词: 肝炎病毒, 乙型; 基因型; 肝硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.048

文献标识码: B

文章编号:1673-4130(2011)15-1750-02

乙型肝炎病毒(HBV)属嗜肝 DNA 病毒, HBV 感染易于慢性化, 并逐渐发展成肝硬化(LC)甚至肝癌(HCC)而严重威胁人类健康。分析 LC 患者的 HBV 基因型, 初步探讨 LC 患者 HBV 基因型的分布情况, 有助于 HBV 的流行病学调查和临床研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 2~11 月兰州市第二人民医院住院及肝病专家门诊就诊的 LC 患者 148 例, 其中代偿期 111 例, 失代偿期 37 例, 其 HBsAg 为阳性, HBV DNA $>10^4$ copy/mL。男性 128 例, 女性 20 例, 年龄 2~65 岁, 平均年龄(43.11 \pm 13.18)岁。诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南》中乙肝后肝硬化的诊断标准^[1]。

1.2 试剂与仪器 HBV 血清学标志物(HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb)试剂盒由英科新创科技有限公司提供; 血清生化指标检测试剂盒由北京九强生物技术有限公司提供; HBV DNA 检测试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供, 试剂盒检测下限 10^3 copy/mL; HBV 基因分型 PCR 检测试剂盒由上海克隆生物高技术有限公司提供, 试剂盒检测下限 10^3 IU/mL。美国 ABI-7300 全自动定量 PCR 仪, 美国贝克曼 SYNCHRON CX5 全自动生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 HBV DNA 定量测定 采用荧光定量 PCR(FQ-PCR)测定 HBV DNA, 严格按试剂盒说明进行操作, HBV DNA $\geq 1 \times 10^3$ copy/mL 为阳性。

1.3.2 HBV 血清学标志物和生化指标检测 应用 ELISA 法检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb, 严格按试剂盒说明进行操作; 血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)采用全自动系列化分析仪进行检测, 按试剂盒说明进行操作。

1.3.3 HBV DNA 基因型的测定 HBV DNA 基因分型采用 PCR 荧光法检测, 严格按照试剂盒说明书进行操作。(1)样本处理: 取血清标本 100 μ L 加核酸提取液 100 μ L, 振荡混匀 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为 PCR 反应模板。(2)基因扩增, 取上清液 4 μ L 分别加入含有 36.4 μ L 各基因型荧光探针混合液的反应管中, 混匀, 13 000 r/min 离心数秒, 反应条件为 50 $^{\circ}$ C 2 min, 94 $^{\circ}$ C 2 min; 再按 93 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 45 s, 循环 40 次, 荧光检测在 60 $^{\circ}$ C, 荧光通道检测选择 FAM 和 HEX。(3)结果判定: 取高于样本噪声线和阴性对照的荧光值作为检测阈值, 以 Ct 值判断 HBV 的基因型。(4)质量控制: 试剂质量完好并操作正确, 分型对照应检测为相应的型别, 对应 Ct ≤ 36 , 阴性对照应表现为阴性结果。

1.4 统计学处理 应用统计分析软件 SPSS17.0 进行 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV DNA 基因型在 LC 患者中的分布 除 4 例未鉴定出基因型外, B 基因型 39.86% (59/148), C 基因型 57.43% (85/148), 差异有统计学意义($\chi^2=4.69, P=0.036$)。见表 1。

表 1 HBV 基因型在 LC 患者中的分布

基因型	n(%)	性别		年龄(岁)
		男	女	
B	59(39.86)*	51 Δ	8	41.00 \pm 13.84
C	85(57.43)	73 Δ	12	44.95 \pm 13.01
合计	144(97.29)	124	20	—

*: $P<0.05$, 与 C 基因型比较; Δ : $P<0.01$, 与相同基因型女性比较; —: 无数据。

表 2 144 例 LC 患者临床资料和血清生化指标的比较

基因型	性别(男/女)	ALT(IU/L)	ALB(IU/L)	TP(IU/L)	TBIL(mol/L)
B 型	51/8	100.71 \pm 105.65*	35.69 \pm 5.86	67.31 \pm 6.48	64.49 \pm 67.55
C 型	73/12	135.13 \pm 95.40	37.43 \pm 8.78	67.30 \pm 10.48	67.60 \pm 65.46

*: $P<0.05$, 与 C 基因型比较。

2.3 基因型与 HBV DNA 及血清学标志物的关系 C 基因型以 HBeAg 阳性多见; B 基因型以 HBeAb 阳性多见; B 基因型较 C 基因型血清 HBeAg 阳性率低($\chi^2=13.33, P=0.000$); C 基因型 HBV DNA 水平高于 B 基因型, 但差异无统计学意义($t=1.052, P=0.61$)。见表 3。

表 3 HBV 基因型与 HBV DNA 和血清学标志物的关系

基因型	HBV DNA*	HBeAg 阳性率(%)	HBeAb 阳性率(%)
B	5.64 \pm 0.96	69.49(41/59)**	18.64(11/59)
C	5.99 \pm 1.13	95.29(81/85)	4.70(4/85)

*: 将检测结果作常用对数转换; **: $P<0.01$, 与 C 基因型比较。

3 讨论

研究表明, HBV 基因型呈一定的地理区域性分布^[2-8], 在中国以 C 基因型和 B 基因型分布占绝对优势, 南方以 B 基因型为主, 北方以 C 基因型为主, 宁夏、广东和香港地区有 15% 的 HBV 感染者为 D 基因型, D 基因型仅见于西部及少数民族地区, A 基因型较为罕见^[9]。但是, 各地报道的基因型分布特点有较大的差异性, 确切分布状况还不十分清楚。本研究结果显示, 148 例 LC 患者中 B 基因型占 39.86% (59/148), C 基因型占 57.43% (85/148), C 基因型显著高于 B 基因型。两种基因型中男性患者基因型构成比均高于女性患者。有研究报道, 从无症状携带者、慢性肝炎到肝硬化, C 基因型比例逐渐升高, B 基因型逐渐降低^[10]。本实验结果显示, C 基因型的 HBeAg 阳性率显著高于 B 基因型($\chi^2=13.33, P=0.000$), C 基因型 HBV 不易发生 HBeAg 的血清学转换, 与国内的研究结果一致; C 基因型 LC 患者的 ALT 显著高于 B 基因型, 提示 C 基因型 HBV 致病力更强, 不易被清除, 患者预后差, 可能与肝病严重程度、病情发展有一定关系。HBV 基因型对 LC 患者的临床评价和治疗预测, 还需进一步证实。

2.2 不同基因型患者临床资料和血清学指标的比较 在 144 例已鉴定出基因型的患者中, 男性 124 例, 女性 20 例, 男女患者比例约为 6.2:1, 两者差异有统计学意义($\chi^2=75.11, P=0.000$); B 基因型组男女比例为 51/8 (6:1), C 基因型组为 73/12 (5.8:1), 两两比较差异有统计学意义($\chi^2=31.34, P=0.000$); $\chi^2=43.78, P=0.000$); C 基因型 ALT 水平明显高于 B 基因型($t=1.99, P<0.05$); 虽然 C 基因型的总胆红素(TBIL) 高于 B 基因型, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 两组间年龄、清蛋白(ALB)、总蛋白(TP)差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(1): 13-24.
- [2] Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness[J]. J Gen Virol, 2000, 81(1): 67-74.
- [3] Jazayeri MS, Basuni AA, Cooksley G, et al. Hepatitis B virus genotypes, core gene variability and ethnicity in the Pacific region[J]. J Hepatol, 2004, 41(1): 139-146.
- [4] Yuen MF, Sablon E, Tanaka Y, et al. Epidemiological study of hepatitis B virus genotypes, core promoter and precore mutations of chronic hepatitis B infection in Hong Kong[J]. J Hepatol, 2004, 41(1): 119-125.
- [5] Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues [J]. Gastroenterology, 2009, 137(5): 1593-1608.
- [6] 李晓光, 胥婕, 刘宝明, 等. 未经治疗的慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒耐药变异、基因型和血清型研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(2): 92-95.
- [7] 胡金华. HBV 基因分型的研究与应用进展[J]. 国际病毒学杂志, 2010, 17(4): 239-241.
- [8] 施云珍, 李朝霞, 厉景南, 等. 东阳地区慢性乙型肝炎病毒基因型的分布及其意义[J]. 浙江医学, 2009, 31(6): 841-842.
- [9] 周霞, 王宇明. 乙型肝炎病毒基因分型研究进展[J]. 重庆医学, 2008, 37(1): 91-93.
- [10] 李洪权, 李申, 张作文, 等. 乙型肝炎病毒基因型在无症状感染者、慢性乙肝和肝硬化患者中分布研究[J]. 中国预防医学杂志, 2005, 6(3): 213-215.

(收稿日期: 2011-01-13)